

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing:

06 May 1999 (06.05.99)

International application No.:

PCT/JP98/01470

Applicant's or agent's file reference:

A005853

International filing date:

31 March 1998 (31.03.98)

Priority date:

24 October 1997 (24.10.97)

Applicant:

SHIMIZU, Hiroyuki et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:

17 July 1998 (17.07.98)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

EP



国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 A005853	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP98/01470	国際出願日 (日.月.年) 31.03.98	優先日 (日.月.年) 24.10.97
出願人(氏名又は名称) 塩野義製薬株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

2. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

3. ☐ この国際出願は、ヌクレオチド及び/又はアミノ酸配列リストを含んでおり、次の配列リストに基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願と共に提出されたもの

☐ 出願人がこの国際出願とは別に提出したもの

☐ しかし、出願時の国際出願の開示の範囲を越える事項を含まない旨を記載した書面が添付されていない

☐ この国際調査機関が書換えたもの

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、
第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int.Cl.⁸ G01N33/48, 33/68, 33/53

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int.Cl.⁸ G01N33/48, 33/68, 33/53

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年
日本国公開実用新案公報 1971-1998年
日本国登録実用新案公報 1994-1998年
日本国実用新案登録公報 1996-1998年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
BIOSYS PREVIEWS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y A	Clin. Chem., Vol. 42, No. 10 (1996) p. 1627-1633	1, 3, 5-8 4 2
Y	Biochemical and Biophysical Reserch Communications, Vol. 161, No. 3 (1989) p. 1177-1183	4
A	Pharmacology & Toxicology Vol. 68, No. 4, (1991) p. 276-281	1-8

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日
09.06.98

国際調査報告の発送日

23.06.98

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)
山村祥子



2 J 9217

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP98/01470

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ G01N33/48, 33/68, 33/53

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ G01N33/48, 33/68, 33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-1998
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-1998	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-1998

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
BIOSYS PREVIEWS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	Clin. Chem., Vol. 42, No. 10 (1996) p.1627-1633	1, 3, 5-8 4 2
Y	Biochemical and Biophysical Research Communications, Vol. 161, No. 3 (1989) p.1177-1183	4
A	Pharmacology & Toxicology Vol. 68, No. 4 (1991) p.276-281	1-8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
--	---

Date of the actual completion of the international search
June 9, 1998 (09. 06. 98)

Date of mailing of the international search report
June 23, 1998 (23. 06. 98)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

137
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference A005853	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP98/01470	International filing date (day/month/year) 31 March 1998 (31.03.1998)	Priority date (day/month/year) 24 October 1997 (24.10.1997)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC G01N 33/48, 33/68, 33/53		
Applicant SHIONOGI & CO., LTD.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 3 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 1 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 17 July 1998 (17.07.1998)	Date of completion of this report 05 January 1999 (05.01.1999)
Name and mailing address of the IPEA/JP Japanese Patent Office, 4-3 Kasumigaseki 3-chome Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915, Japan Facsimile No.	Authorized officer Telephone No. (81-3) 3581 1101

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP98/01470

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:
pages _____ 1-8 _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☒ the claims:
pages _____ 2-6,8 _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____ 1,7 _____, filed with the letter of _____ 09 December 1998 (09.12.1998)
- ☒ the drawings:
pages _____ 1-3 _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP98/01470

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-8	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-8	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-8	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Claims 1-8

Document 1 [Clin. Chem., Vol. 42, No. 10 (1996), p. 1627-1633] describes a method for assaying human atrial natriuretic peptides using a container containing aprotinin as a peptide-decomposing substance-inhibitor. However, a technique using a container made of or covered with a material containing a substance capable of inhibiting the activation of a peptide-decomposing substance is neither described nor suggested in any of the documents cited in the ISR.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

P C T

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

REC'D 15 JAN 1999

AIPO PCT

出願人又は代理人 の書類記号 A005853	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P98/01470	国際出願日 (日.月.年) 31.03.98	優先日 (日.月.年) 24.10.97
国際特許分類 (IPC) Int. Cl ⁸ G01N33/48, G01N33/68, G01N33/53		
出願人 (氏名又は名称) 塩野義製薬株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。

☒ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で 1 ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 17.07.98	国際予備審査報告を作成した日 05.01.99	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 山村 祥子 電話番号 03-3581-1101 内線 3252	2 J 9217

HIS PAGE BLANK (USPTO)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☐ 出願時の国際出願書類

☒ 明細書 第 1-8 ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☒ 請求の範囲 第 2-6, 8 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT 19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 1, 7 項、 09. 12. 98 付の書簡と共に提出されたもの

☒ 図面 第 1-3 ~~ページ~~ 図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲

1-8

有

請求の範囲

無

進歩性(I S)

請求の範囲

1-8

有

請求の範囲

無

産業上の利用可能性(I A)

請求の範囲

1-8

有

請求の範囲

無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

請求の範囲1-8

文献1: Clin. Chem., Vol. 42, No. 10 (1996) p. 1627-1633

には、ペプチド分解物質の阻害剤であるアプロチニンを含む容器を用いてヒトの心房性ナトリウム利尿ペプチドを測定する方法が記載されているが、ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質を含む材料で製造または被覆された容器を使用する技術に関しては、国際調査報告で列記した文献に、記載も示唆もされていない。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

請 求 の 範 囲

1. (補正後) 哺乳類のナトリウム利尿ペプチドを含有する検体の操作において、検体接触面が該ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質を含む材料で製造または被覆された容器を用いることを特徴とする、該検体中の該ペプチド分解抑制方法。
2. ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質がシリコンまたはプラスチックである請求項1記載の方法。
3. 哺乳類がヒト、イヌ、ブタ、ラットおよびマウスである請求項1または2記載の方法。
4. ナトリウム利尿ペプチドがBNPである請求項1から3までのいずれかに記載の方法。
5. 該検体がアプロチニンを含んでいない検体である請求項1から4記載の方法。
6. 請求項1記載の方法を含む、哺乳類のナトリウム利尿ペプチドの測定方法。
7. (補正後) 哺乳類のナトリウム利尿ペプチド測定のためのキットであって、検体接触面が該ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質を含む材質で製造または被覆された容器を用いることを特徴とする該ペプチド測定キット。
8. 該検体がアプロチニンを含んでいない検体である請求項7記載のキット。

THIS PAGE BLANK (USPTO)



特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類6 G01N 33/48, 33/68, 33/53	A1	(11) 国際公開番号 WO99/22235 (43) 国際公開日 1999年5月6日(06.05.99)
(21) 国際出願番号 PCT/JP98/01470 (22) 国際出願日 1998年3月31日(31.03.98) (30) 優先権データ 特願平9/292982 1997年10月24日(24.10.97) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 塩野義製薬株式会社(SHIONOGI & CO., LTD.)(JP/JP) 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町3丁目1番8号 Osaka, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 清水洋行(SHIMIZU, Hiroyuki)(JP/JP) 〒653-0843 兵庫県神戸市長田区御屋敷通3-1-2-709 Hyogo, (JP) 浅田英久(ASADA, Hidehisa)(JP/JP) 〒569-1042 大阪府高槻市南平台5-23-5 Osaka, (JP) 遠藤三朗(ENDO, Kazuaki)(JP/JP) 〒569-1042 大阪府高槻市南平台3-5-18 Osaka, (JP)		(74) 代理人 弁理士 山内秀晃(YAMAUCHI, Hideaki) 〒553-0002 大阪府大阪市福島区鷺洲5丁目12番4号 Osaka, (JP) (81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). 添付公開書類 国際調査報告書
(54) Title: METHOD FOR INHIBITING DECOMPOSITION OF NATRIURETIC PEPTIDES AND IMPROVED METHOD FOR ASSAYING NATRIURETIC PEPTIDES WITH THE USE OF THE SAME (54) 発明の名称 ナトリウム利尿ペプチドの分解抑制方法および該方法を用いた改良されたナトリウム利尿ペプチド測定方法 (57) Abstract A method for inhibiting the decomposition of mammalian natriuretic peptides, in particular, BNP by using containers wherein the face coming into contact with specimens is made of a material capable of inhibiting the activation of a substance decomposing peptides. This method makes it possible to stably and conveniently collect specimens for assaying natriuretic peptides. Also provided is a method for assaying natriuretic peptides by using these containers.		

検体接触面がペプチド分解物質の活性化を抑制する物質からなる容器を用いた哺乳類のナトリウム利尿ペプチド、特にBNPの分解抑制方法が提供される。本発明によればナトリウム利尿ペプチド測定用検体の安定で簡便な採取が可能となる。

さらに、該容器を用いたナトリウム利尿ペプチド測定方法が提供される。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール
AL	アルバニア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア
AM	アルメニア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AT	オーストリア	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AU	オーストラリア	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサオ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TR	トルコ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ	ML	マリ	TT	トリニダード・トバゴ
BR	ブラジル	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
BY	ベラルーシ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
CA	カナダ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	US	米国
CF	中央アフリカ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CG	コンゴ	IN	インド	NE	ニジェール	VN	ヴェトナム
CH	スイス	IS	アイスランド	NL	オランダ	YU	ユーゴスラビア
CI	コートジボアール	IT	イタリア	NO	ノールウェー	ZA	南アフリカ共和国
CM	カメルーン	JP	日本	NZ	ニュージーランド	ZW	ジンバブエ
CN	中国	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CU	キューバ	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
CY	キプロス	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
CZ	チェコ	KR	韓国	RU	ロシア		
DE	ドイツ	KZ	カザフスタン	SD	スーダン		
DK	デンマーク	LC	セントルシア	SE	スウェーデン		
EE	エストニア						

明 細 書

ナトリウム利尿ペプチドの分解抑制方法および該方法を用いた改良されたナトリウム利尿ペプチド測定方法

技術分野

本発明は、ナトリウム利尿ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質を含む容器を用いた該ペプチド分解抑制方法および該容器を用いた該ペプチドの測定、分析、採取、保存に関する。

背景技術

ナトリウム利尿ペプチドファミリーは、少なくとも心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）、脳性ナトリウム利尿ペプチド（BNP）およびC型ナトリウム利尿ペプチド（CNP）の3種類から形成されている。CNPは主に血管内皮から分泌される血管増殖調節ペプチドであるのに対し、ANPおよびBNPは、主として心臓で生合成され、分泌される心臓ホルモンである。それらのペプチドは前駆体として生合成され、成熟型としてヒトにおいてはANPは28アミノ酸からなる α -ANP、BNPは32アミノ酸からなる α -BNP、CNPは22アミノ酸からペプチドがそれぞれ形成される。

ナトリウム利尿ペプチドは様々な疾患により血液中に分泌されるが、ANPの分泌は心房の負荷により亢進されること、BNPは心室への負荷で生合成、分泌が亢進されることから心機能の変化を反映しており、共に心疾患、特に心不全の診断指標として用いられている。現在、ANPとして α -ANPを、BNPとして α -BNPをそれぞれ免疫測定法により血中濃度を測定し、その測定値を診断指標としている。

しかし、 α -ANPおよび α -BNPは採血後、血中のプロテアーゼによる分解を受け易く、極めて不安定であることから、検体の採取方法、保存方法並びに測定までの時間が測定結果に大きく影響する。そこで、正確な測定を行うために

、アプロチニン等の分解抑制剤を添加したり、検体を低温に保つなどの操作が行われているが、これらは煩雑であったり、過度の負担を強いているものであり、かつ完全なものではなかった。

発明の開示

ナトリウム利尿ペプチドは採血後、血中に存在するプロテアーゼなどのペプチド分解物質により分解されると推測されている。従来、血液試料中にプロテアーゼインヒビターなどのペプチド分解物質阻害剤を添加し、ナトリウム利尿ペプチドの分解を抑制していたが完全には分解を抑制できなかった。ガラス製容器に検体を採取すると、陰性電荷を有するガラスなどの固相により凝固因子が活性化によりプロテアーゼなどのペプチド分解物質が活性化され、ナトリウム利尿ペプチドを分解していると推測し、ガラス製容器の検体接触面をシリコンでコートしたものをを用いて検体を採取したところ、ペプチド分解物質によるナトリウム利尿ペプチドの分解が抑制される成績を得た。

本発明者らはナトリウム利尿ペプチドの測定において、検体接触面をシリコンでコートすることにより、プロテアーゼなどのペプチド分解物質によるナトリウム利尿ペプチドの分解が有意に抑制されることを見出した。

一方、ポリエチレンテレフタレート（PET）、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエチレンおよびアクリル樹脂などのプラスチック容器を用いた場合にもナトリウム利尿ペプチドの分解が抑制されることを見出した。

このことから、哺乳類のナトリウム利尿ペプチドを含有する検体の操作において、検体接触面が該ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質からなる容器を用いることにより、該検体中の該ペプチドの分解が抑制されと考えられる。従って、ナトリウム利尿ペプチドを測定するために、検体接触面が少なくともガラス製でない検体採取容器を用いることは、従来の煩雑な検体処理が不要にすると考えられる。また、ナトリウム利尿ペプチドは心疾患の診断マーカーとして用いられていることから、これらの簡便な検体採取方法は心疾患の正確な診断に寄与し得ると考えられる。

本発明は哺乳類のナトリウム利尿ペプチドを含有する検体の操作において、検体接触面が該ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質からなる容器を用いることにより、該検体中の該ペプチド分解抑制方法を確認し、該方法を用いた改良されたナトリウム利尿ペプチドの測定方法で測定した結果を基礎とする。

即ち、本発明は哺乳類のナトリウム利尿ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質、好ましくはシリコンまたはプラスチックからなる材料を検体接触面に用いた容器を用いた該ペプチド分解抑制方法に関する。

哺乳類のナトリウム利尿ペプチドとは少なくともANPおよびBNPを包含しており、各々の前駆体および誘導体を意味する。その理由は、生体中には成熟型のみならずγ-ANPおよびγ-BNP等の前駆体、さらにその誘導体が存在するからである(BBRC, 214(3), (1995))。また、哺乳類とはナトリウム利尿ペプチドが存在するあらゆる哺乳類を意味し、該ペプチドが存在する種としてヒト、イヌ、ブタ、ラットおよびマウスが知られている。

「検体の操作」とは、採取・保存・測定等の検体を取り扱うあらゆる手段を意味する。

「ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質」とは、採取した検体中に含まれるプロテアーゼなどのペプチド分解物質の活性化を抑制する物質で、少なくとも検体採取容器の検体接触面を構成できる物質を意味し、シリコンおよびプラスチック、好ましくはポリエチレン、ポリエチレンテレフタレート、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリアミド、アクリル樹脂などを意味する。例えば、市販されているシリコンとしてシリコナイズL-25(ファイコン)があり、該シリコンを用いて当業者既知の方法でガラス製およびポリエチレン製などの一般に用いられている容器をコートすることが可能である。

「容器」とは、検体採取容器、保存容器、測定容器などのあらゆる容器を意味し、例えば、分解抑制物質で製造またはコートした、好ましくはシリコンまたはプラスチックで製造またはコートした容器を意味する。

測定検体は生体試料ならいつでもよく、全血または血漿が好ましい。

本発明はアプロチニンを含んでいない検体中のナトリウム利尿ペプチドの測定

に関する。

アプロチニンはナトリウム利尿ペプチドのプロテアーゼなどのペプチド分解物質による分解・活性化を抑制するために検体中に添加されていたが、アプロチニンを含有しても、生体試料中に存在するペプチド分解物質およびその活性化物質を全て抑制することができないためである。

また、本発明は哺乳類のナトリウム利尿ペプチド測定方法であって、本発明のナトリウム利尿ペプチド分解抑制方法を含む該ペプチドの測定方法に関する。

ナトリウム利尿ペプチドの測定は生物活性測定方法、液体クロマトグラフィー法または免疫測定方法等を用いることができる。免疫測定方法としては競合法、サンドイッチ法のいずれでもよく、当業者既知の方法で行うことができる。或いは、市販の α -ANP測定キット「シオノリアANP」（塩野義製薬）または α -BNP測定キット「シオノリアBNP」（塩野義製薬）を用いて測定が可能である。

さらに本発明は、哺乳類のナトリウム利尿ペプチド測定のためのキットであって、該ペプチド測定用検体の採取および測定方法において、検体接触面が該ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質を含む容器を用い、該検体中の該ペプチドの分解抑制方法を含むキットに関する。

図面の簡単な説明

図1はガラス製試験管またはシリコンコートしたガラス製試験管中に25℃で保存した時の保存時間と、各種BNP測定方法で測定したBNP様物質の残存活性との関係を示すグラフ。

図2はシリコンコートしたまたはしていないポリエチレンテレフタレート製試験管ならびにガラス製試験管中に25℃で保存した時の保存期間と、BNP様物質の残存活性との関係を示すグラフ。

図3はシリコンコートしたまたはしていないガラス製試験管およびポリスチレン、ポリプロピレン、強化ポリエチレン、アクリル樹脂の各種プラスチック製試験管中に25℃で24時間保存した時のBNP様物質の残存活性を示すグラフ。

実施例

次に実施例によって本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例にのみ限定されるものではない。

実施例 1

ガラス製試験管を用いたBNPの測定

(1) シリコンコートしたガラス製試験管の製造：市販のガラス製試験管（テルモ）を精製水で1回洗浄し、3%（v/v）シリコン溶液（シリコナイズL-25：ファイコン社）で3回洗浄を行った。その後、再度精製水で1回洗浄し、300℃で90分間乾燥した。

(2) 測定用検体の調製：健常者からEDTA採血管（1.5mg/ml EDTA・2Na）に静脈血を採取した。採血した血液にヒト α -BNP（ペプチド研究所）を最終濃度が200pg/mlになるよう添加し、検体とした。

(3) IRMA法によるBNP測定：検体をシリコンコートしていないガラス製試験管およびシリコンコートしたガラス製試験管に各々分注後、室温（25℃）にて0、2、6、24時間放置した。その後、検体を4℃、 $\times 2000g$ 、5分間の遠心分離（コクサン：H-107GA）により血球分離を行い、-80℃で保存した後、BNPの免疫活性を「シオノリアBNPキット」（塩野義製薬）で測定した。

即ち、各測定検体および各種標準物質（ α -BNP溶液；0、4、10、150、600、2000pg/ml）をシオノギチューブ（ポリスチレン製：塩野義製薬）にそれぞれ100 μ l分注し、ヨウ化抗BNP抗体溶液を200 μ l添加し、抗BNP抗体固相ポリスチレンビーズを1個加えて攪拌後、4℃で18時間反応した。2mlの洗浄液で2回洗浄を行った後、放射活性を γ -カウンターARC-600（アロカ社）で測定した。得られた結果を図1に示す。

ガラス製試験管（図1、■）を用いた場合、24時間放置するとBNP残存活

性率が約 20 %であるのに対し、シリコンコートしたガラス製試験管（図 1、□）を用いた場合、24 時間放置しても BNP の残存活性率は約 80 %と活性が保持され、ペプチド分解物質の活性が抑制された。

図 1 は検体採取容器の検体接触面をシリコンコートすることによりナトリウム利尿ペプチドの分解物質の活性が抑制できることを示している。

実施例 2

ポリエチレンテレフタレート（PET）製試験管を用いた BNP の測定

（1）シリコンコートした PET 製試験管の製造：市販されている PET 製試験管（テルモ社）を精製水で 1 回洗浄し、3 %（v/v）シリコン溶液（シリコナイズ L-25：ファイコン社）で 3 回洗浄を行った。その後、再度精製水で 1 回洗浄し、乾燥した。

（2）測定用検体の調製：健常者から EDTA 採血管（1.5 mg/ml EDTA・2Na）に静脈血 50 ml を採取した。採取した血液に α -BNP（ペプチド研究所）を最終濃度が 200 pg/ml になるよう添加し、検体とした。

（3）IRMA 法による BNP の測定：検体をシリコンコートした PET 製試験管およびガラス製試験管ならびにシリコンコートしていない PET 製およびガラス製試験管に各々分注後、室温（25℃）にて 0、1、6、24、72 時間放置した。その後、検体を 4℃、 $\times 2000g$ 、5 分間の遠心分離（コクサン：H-107GA）により血球分離を行い、-80℃で保存した後、血漿検体中の BNP 免疫活性を「シオノリア BNP キット」（塩野義製薬）で測定した。測定方法は実施例 1 と同様に行った。

その結果、図 2 に示すようにシリコンコートしたガラス試験管（図 2、□）と同様に、PET 製試験管を用いると、シリコンコート有（図 2、○）、無（図 2、●）に関わらず、24 時間放置した場合でも BNP 残存活性率は共に約 80 %と分解物質の活性が抑制された。しかし、シリコンコートしていないガラス試験管（■）では 24 時間放置すると BNP 残存活性率は 0 %となった。

実施例 3

プラスチック試験管を用いたBNPの測定

検体保存用容器としてガラス製試験管、シリコンコートしたガラス製試験管およびプラスチック試験管としてポリスチレン製（塩野義製薬）、ポリプロピレン製A、ポリプロピレン製B、強化ポリエチレン製、アクリル樹脂製の5種類を使用した。

（1）IRMA法によるBNPの測定

上記各種プラスチック試験管およびガラス製試験管（シリコンコートしたものおよびしていないもの）に各々分注後、室温（25℃）にて0、24時間放置した。その後、検体を4℃、×2000g、5分間の遠心分離（コクサン：H-107GA）により血球分離を行い、得られた血漿検体を-80℃で保存した後、血漿検体中のBNP免疫活性を「シオノリアBNP」キット（塩野義製薬）で測定した。測定方法は実施例1と同様に行った。

シリコンコートしたガラス製試験管（図3、レーン2）と同様にポリスチレン製、ポリプロピレン製A、ポリプロピレン製B、強化ポリエチレン製、アクリル樹脂製（図3、レーン3、4、5、6、7）の5種類のプラスチック試験管いずれを用いた場合においてもBNP残存活性率は50%以上を示し、ペプチド分解活性が抑制された。しかし、ガラス製試験管（図3、レーン1）ではBNP残存活性率は0%であった。

BNPはガラス製試験管ではプロテアーゼなどによるペプチド分解物質の分解を受け、残存活性率に顕著な減少が見られるが、シリコンコートを施すことにより、残存活性率の減少を抑えることができた。さらに、ポリエチレンテレフタレート、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエチレンおよびアクリル樹脂などのプラスチック製試験管はシリコンコートを施していないにもかかわらず、残存活性率の減少が抑えられ、プロテアーゼなどのペプチド分解物質の活性が抑制されることが明らかとなった。

発明の効果

本発明の検体接触面がペプチド分解物質の活性化を抑制する物質で構成された容器を用いることによるペプチド分解物質の抑制方法は、測定検体の採取法、保存法、および測定までの時間による影響を受けることなく、安定で、信頼性のある臨床データを提供する。

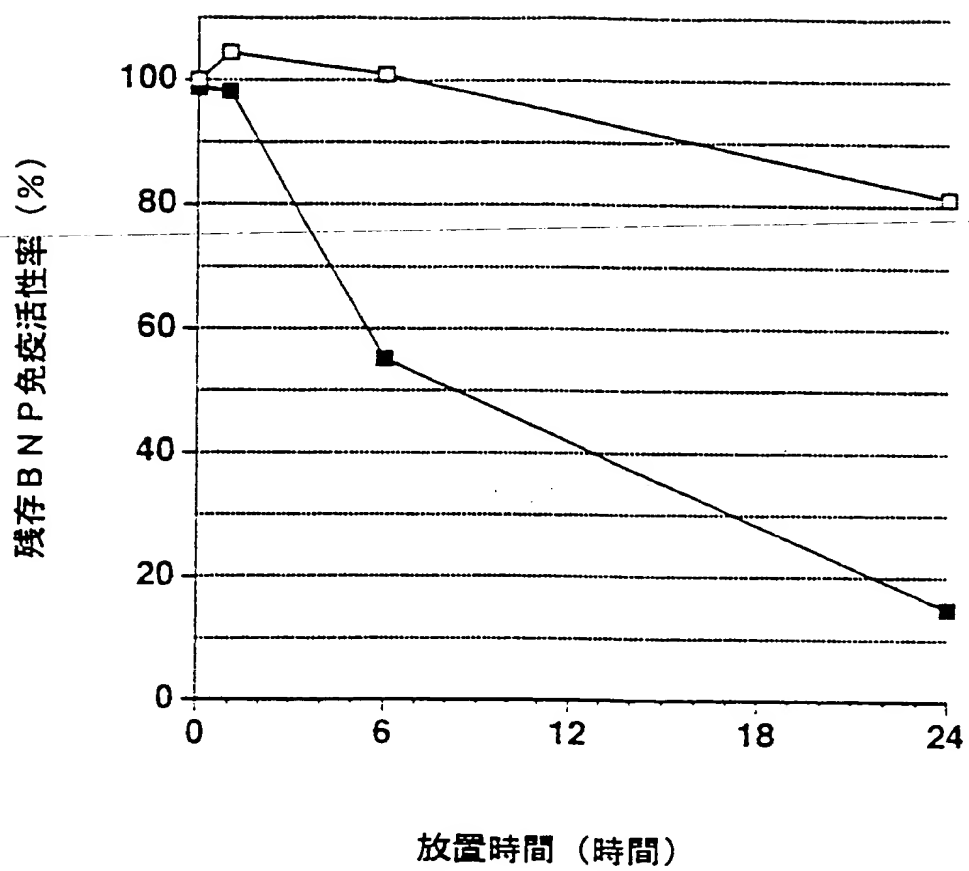
また、採血試料に煩雑な処理を施すことなく測定することができるので、経済的で、簡便かつ安定な信頼性のある臨床データを提供し、心疾患の正確な診断に貢献し得る。

請 求 の 範 囲

1. 哺乳類のナトリウム利尿ペプチドを含有する検体の操作において、検体接触面が該ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質を含む容器を用いることを特徴とする、該検体中の該ペプチド分解抑制方法。
2. ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質がシリコンまたはプラスチックである請求項 1 記載の方法。
3. 哺乳類がヒト、イヌ、ブタ、ラットおよびマウスである請求項 1 または 2 記載の方法。
4. ナトリウム利尿ペプチドが BNP である請求項 1 から 3 までのいずれかに記載の方法。
5. 該検体がアプロチニンを含んでいない検体である請求項 1 から 4 記載の方法。
6. 請求項 1 記載の方法を含む、哺乳類のナトリウム利尿ペプチドの測定方法。
7. 哺乳類のナトリウム利尿ペプチド測定のためのキットであって、検体接触面が該ペプチド分解物質の活性化を抑制する物質を含む容器を用いることを特徴とする該ペプチド測定キット。
8. 該検体がアプロチニンを含んでいない検体である請求項 7 記載のキット。

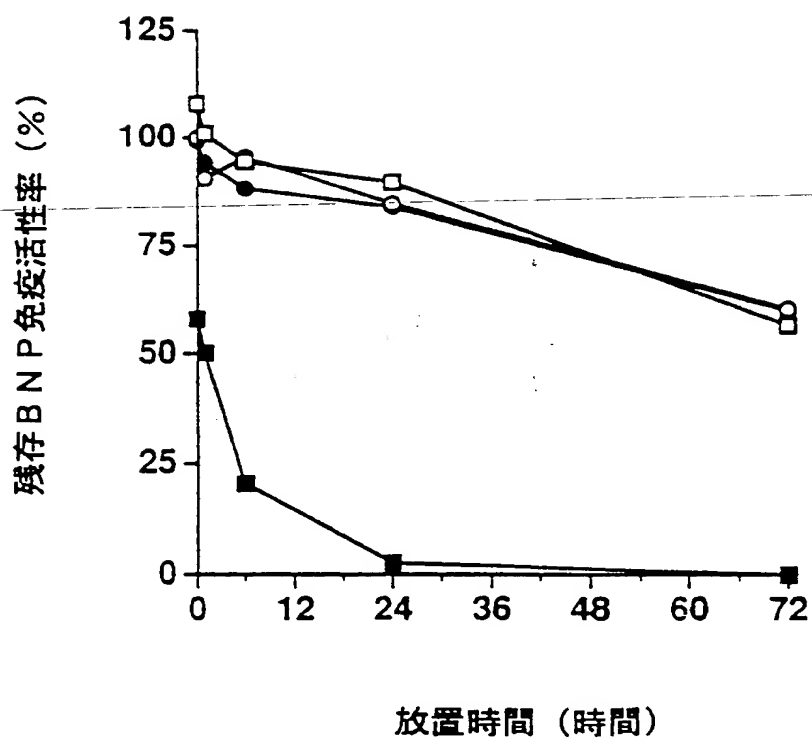
THIS PAGE BLANK (USPTO)

図 1



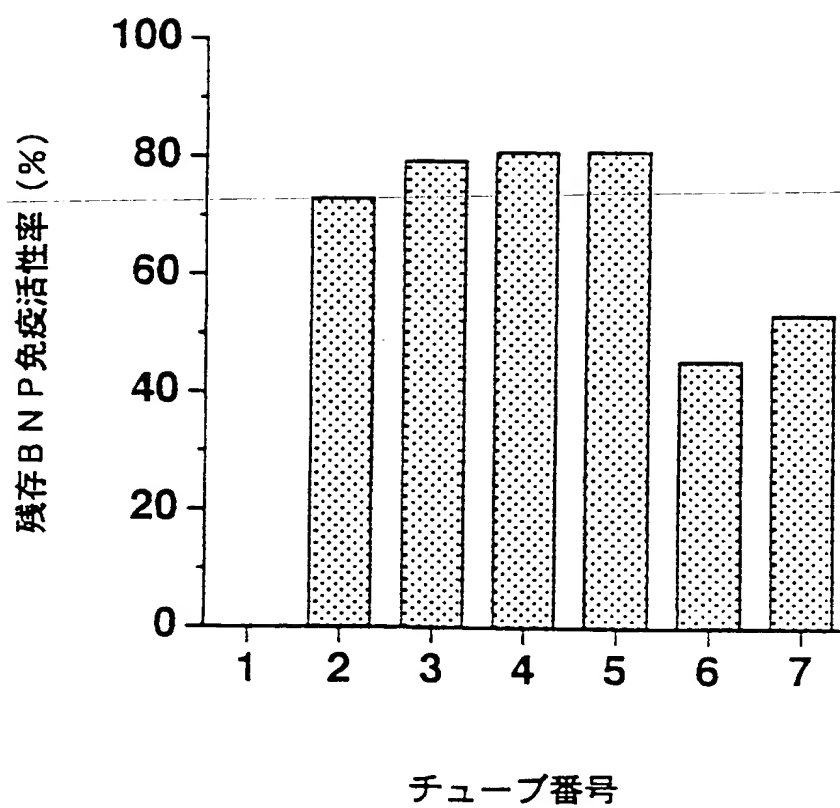
THIS PAGE BLANK (USPTO)

図 2



THIS PAGE BLANK (USPTO)

図 3



THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/01470

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁶ G01N33/48, 33/68, 33/53

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁶ G01N33/48, 33/68, 33/53

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-1998
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-1998 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-1998

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSYS PREVIEWS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y A	Clin. Chem., Vol. 42, No. 10 (1996) p.1627-1633	1, 3, 5-8 4 2
Y	Biochemical and Biophysical Research Communications, Vol. 161, No. 3 (1989) p.1177-1183	4
A	Pharmacology & Toxicology Vol. 68, No. 4 (1991) p.276-281	1-8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
June 9, 1998 (09. 06. 98)

Date of mailing of the international search report
June 23, 1998 (23. 06. 98)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁶ G 01 N 33/48, 33/68, 33/53

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁶ G 01 N 33/48, 33/68, 33/53

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年
 日本国公開実用新案公報 1971-1998年
 日本国登録実用新案公報 1994-1998年
 日本国実用新案登録公報 1996-1998年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
 BIOSYS PREVIEWS

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y A	Clin. Chem., Vol. 42, No. 10 (1996) p. 1627-1633	1, 3, 5-8 4 2
Y	Biochemical and Biophysical Reserch Communications, Vol. 161, No. 3(1989)p. 1177-1183	4
A	Pharmacology & Toxicology Vol. 68, No. 4, (1991) p. 276-281	1-8

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

09.06.98

国際調査報告の発送日

23.06.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

山村祥子

2 J 9217

電話番号 03-3581-1101 内線 3252